Ueber

die Bestandtheile der Blüthen der Ringelblume

(Calendula officinalis).

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

bei der

hohen philosophischen Fakultät

der

Königlichen Friedrich-Alexanders-Universität zu Erlangen

vorgelegt

von

Ferdinand Adolf Wirth

aus Köln-Deutz,

den 17. Februar 1890.

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

Wesel,

B. Schmithals.

1891.

Ueber die Bestandtheile der Ringelblume finden wir in der Literatur nur eine einzige Angabe. Dieselbe entstammt einer im Jahre 1818 erschienenen Arbeit Geigers (Dissert. de Calendula officinali). Geiger hat die Ringelblume sowie die Blüthen derselben einer der damaligen Zeit vielleicht angepassten oberflächlichen Untersuchung unterworfen; er giebt den Aschengehalt der Blüthen zu 8% an, welche Asche 24% Kalium und 14,4% Chlornatrium enthalten soll. Aus dem weingeistigen Auszuge der ganzen Pflanze erhält derselbe nach Behandlung mit Wasser und Aether eine gelbliche, durchsichtige, zerreibliche Masse ohne Geruch und Geschmack, von neutraler Reaction, welcher Masse er den Namen Calendulin beilegt. Dieses Calendulin soll in Wasser gallertartig aufquellen, von wässriger Kalilauge sowie Ammoniak gelöst und aus dieser Lösung durch Säuren wieder abgeschieden werden. Dasselbe ist ferner löslich in concentrirter Essigsäure und Weingeist, nicht in Aether; die weingeistige Lösung wird durch Quecksilberchlorid gefällt.

Da in nachfolgender Arbeit in hervorragendem Maasse der Farbstoff der Blüthen von Calendula officinalis Berücksichtigung findet, so seien hier noch einige in den letzten Jahren erschienene Arbeiten erwähnt, welche sich mit gelben Pflanzenfarbstoffen beschäftigen.

Ueber den Farbstoff der Mohrrübe (Daucus carota), Carotin genannt, finden wir in Husemann und Hilger's „Pflanzenstoffe“ (959—961) die bis dahin erschienene Literatur vereinigt.

Zur Darstellung des Carotins werden zerriebene Mohrrüben wiederholt mit Wasser ausgepresst und mit verdünnter Schwefelsäure und Gerbsäure gefällt. Das ausfallende Coagulum enthält ausser Albumin das Carotin und Hydrocarotin. Es wird abgepresst, in halbtrockenem Zustande mit seinem fünf bis sechsfachen Volumen 80% Weingeistes, welcher Hydrocarotin und Mannit auszieht, gekocht, und hierauf mit kochendem Schwefelkohlenstoff erschöpft, der das Carotin mit blutrother Farbe aufnimmt. Diese Schwefelkohlenstofflösung wird durch Destillation auf ein geringes Volumen gebracht und der Rückstand mit seiner gleichen Masse absoluten Weingeistes versetzt, worauf bei ruhigem Stehen das Carotin auskrystallisirt.

Es bildet dieses Carotin dunkelrothe, sammtglänzende, bisweilen goldglänzende, anscheinend quadratische Tafeln, ohne Geruch, und von neutraler Reaction, welche beim Erwärmen Veilchengeruch zeigen, bei 167° schmelzen und beim Erkalten amorph erstarren. Dasselbe ist schwerer als Wasser, unlöslich in demselben ebenso wie in Alkalien und Säuren, dagegen leicht löslich in Benzol, flüchtigen und fetten Oelen, namentlich mit blutrother Farbe in Schwefelkohlenstoff.

Im Lichte wird Carotin bald farblos, unkrystallisirbar und schwer löslich in Schwefelkohlenstoff, dagegen leicht löslich in Weingeist und Aether; eine gleiche Veränderung wird durch Erhitzen auf 150° bewirkt.

Concentrirte Schwefelsäure löst frisch dargestelltes Carotin mit purpurblauer, am Lichte verändertes mit Umbrafarbe auf, aus welcher Lösung dasselbe durch Wasser in dunkelgrünen, nicht mehr krystallisationsfähigen Flocken abgeschieden wird. Gasförmige schweflige Säure färbt Carotin tiefindigblau, ohne es zu verändern, wässerige schweflige Säure kaffeebraun; die ursprüngliche Farbe kann durch Zusatz von Kalilauge wieder hergestellt werden. Kalte rauchende Salpetersäure verwandelt Carotin in Nitrocarotin, die Halogene bilden Substitutionsproducte.

Neben dem Carotin findet sich in den Mohrrüben das Hydrocarotin, welches A. Husemann einer eingehenden Untersuchung würdigte.

Derselbe gewinnt dasselbe bei Gelegenheit der Darstellung des Carotins aus den weingeistigen Auskochungen des durch Schwefelsäure im ausgepressten Möhrensafte erzeugten Coagulums. Diese weingeistigen Auskochungen setzen beim Erkalten zunächst einen rothbraunen Schlamm ab, nach dessen Entfernung bei längerem Stehen sich ein krystallinisches Gemenge von Mannit und Hydrocarotin ausscheidet. Ersterer kann durch Extraction mit Wasser entfernt werden. Das so zurückbleibende Hydrocarotin wird durch Umkrystallisation aus Alkohol gereinigt.

Dasselbe bildet farblose, seideglänzende Blättchen ohne Geruch und Geschmack, auf Wasser schwimmend ohne sich zu benetzen, bei 100° hart und brüchig werdend, bei wenig höherer Temperatur gelblich und weich, schliesslich bei 176° zu einer gelben Flüssigkeit schmelzend. Es ist unlöslich in Wasser, leicht löslich in siedendem Weingeist, aus dem es beim Erkalten fast vollständig auskrystallisirt; ferner auch leicht löslich in Aether, Chloroform,

Benzol, fetten und flüchtigen Oelen. Concentrirte Schwefelsäure löst es mit rubinrother Farbe auf, aus welcher erwärmten Lösung durch Wasser wieder unkrystallisirbares Hydrocarotin ausgefällt wird. Durch rauchende Salpetersäure tritt Nitrirung, durch Halogene Substitution ein. Husemann giebt dem Carotin die Formel $C_{18}H_{24}O$, dem Hydrocarotin $C_{18}H_{30}O$.

In den Monatsheften der Chemie (VII—1886) veröffentlicht Fr. Reinitzer eine Arbeit über Carotin und Hydrocarotin.

Zur Darstellung werden zerriebene Mohrrüben scharf gepresst, bei 70—80° vollständig getrocknet und mit Schwefelkohlenstoff extrahirt; nach Abdestilliren des letzteren bleibt Carotin nebst Hydrocarotin mit viel Fett gemengt als zähe schmierige Masse zurück. Diese Masse wird mit viel alkoholischer Kalilauge verseift und nach dem Verdunsten des Weingeistes mit Wasser aufgenommen, in welchem sich die Masse fast vollständig löst. Da das Ausschütteln dieser wässrigen Lösung mit Aether nur schlecht von Statten geht, wird dieselbe mit Chlorbaryum ausgefällt, und der gewaschene und im Vacuum getrocknete Niederschlag im Soxhlet'schen Apparate mit Schwefelkohlenstoff extrahirt. Nach dem Abdunsten des letzteren kann man durch siedendes Aceton und siedenden Methylalkohol leicht Carotin von Hydrocarotin trennen, da letzteres beim Auskühlen der Lösung als reiner weisser Körper auskrystallisirt.

Dieses so gewonnene Hydrocarotin ist unlöslich in Wasser, schwer löslich in kaltem, leicht löslich in siedendem Alkohol, noch leichter in Aceton, am leichtesten in Aether, Chloroform und Schwefelkohlenstoff. Aus Methylalkohol wird dasselbe im perlmutter-

glänzenden Blättchen mit Krystallwasser erhalten, welch letzteres beim Erwärmen auf 100° sowie auch schon beim Trocknen über Schwefelsäure leicht abgegeben wird.

Reinitzer hält dieses Hydrocarotin für ein Cholesterin und giebt ihm die Formel $C_{26}H_{44}O$. Das Drehungsvermögen im Wildt'schen Polaristrobometer beträgt für eine Auflösung von 4,1312 gr in 100 gr Chloroform bei 21° 3,4°. Das Hydrocarotin giebt von Farbenreactionen, welche für Cholesterin charakteristisch sind, die Schiff'sche, Salkowski-sche, Liebermann'sche, sowie die Reaction mit Salzsäure und Eisenchlorid in Chloroformlösung.

Arnaud (Comptes rend. 87. 669 und 1080; 109. 911—914), welcher sich sehr viel mit dem Carotin beschäftigte, hält dasselbe für einen ungesättigten Kohlenwasserstoff der Zusammensetzung $C_{26}H_{38}$, welcher an der Luft sehr leicht Sauerstoff aufnimmt. Derselbe erhält das Carotin krystallisirt in rhombischen Blättchen mit metallischem Schimmer, die in reflectirtem Lichte blau in durchfallendem Lichte orange erscheinen. Dieses Carotin bindet leicht Sauerstoff sowie die Halogene und zersetzt sich im Vacuum über 300°, indem es in eine zähe farblose Flüssigkeit übergeht.

H. Immendorf (Landwirthschaftliche Jahrbücher 1889, 507—520) identificirt das Carotin mit dem gelben Farbstoffe grüner Blätter.

Zur Darstellung desselben kocht derselbe grüne Blätter mit einer sehr verdünnten wässrigen Natronhydratlösung, giesst die entstandene braune Flüssigkeit ab, wäscht mit Wasser aus, und befreit die so vorbereiteten Blätter möglichst von Wasser. Diese Blätter werden mit starkem Alkohol übergossen, in

welchem sich schon nach 24stündigem Stehen Carotin-Krystalle vorfinden. Auflösungen dieser Krystalle zeigen zwei Absorptionsstreifen im Blau und vollständige Absorption des Violett.

Um weitere Mengen Carotins aus obigen Pflanzentheilen zu gewinnen, werden die grün gefärbten alkoholischen Auszüge nach Entfernung der darin vorhandenen Carotinkrystalle mit wenig Natronhydrat versetzt, der Alkohol bis auf einen geringen Rest abdestillirt und die zurückbleibende dickflüssige Masse mit Aether extrahirt. Der gelbe Farbstoff wird von Aether gelöst.

In einigen Fällen gelingt es nach Verdunsten des Aethers und Aufnehmen des Rückstandes in Schwefelkohlenstoff durch Zusatz von Alkohol den ganzen Farbstoff krystallinisch zu erhalten.

Lässt man den ätherischen Auszug verdunsten und nimmt in anderen Lösungsmitteln auf, so erhält man, namentlich wenn bei der Darstellung Natronhydrat im Ueberschusse zugesetzt war, aus Methyl- und Aethyl-Alkohol nach mehrmaligem Umkrystallisiren farblose krystallinische Blättchen, welche Verfasser, da sie einen dem Cholesterin gleichen Schmelzpunkt zeigen (135°), für ein Cholesterin hält, welches neben dem Farbstoffe in den Pflanzen vorhanden sei.

A. Hansen theilt in einer 1884 erschienenen Arbeit „Die Farbstoffe der Blüthen und Früchte“ die gelben Farbstoffe in zwei Klassen, je nachdem dieselben in Wasser löslich sind oder nicht. Die der ersten Klasse angehörigen Blumenfarbstoffe kommen hiernach im Zellsafte gelöst vor, während die der zweiten Klasse zugehörigen, ähnlich wie das Chlorophyll, an Fettsäuren gebunden sind; es soll sich diese

letztere Art von Farbstoffen gegen Natronhydratlösung sehr passiv erhalten, worauf er sein Verfahren zur Reindarstellung der Farbstoffe gründet.

Er erhitzt einen alkoholischen Blumenauszug mit einem Zusatz von Natronhydrat längere Zeit zum Sieden, wodurch eine Verseifung von Fettsäuren bewirkt wird, und extrahirt das getrocknete Reactionsprodukt mit Petroläther. Auf diese Weise gelang es, die gelben Farbstoffe verschiedener Blumen in krystallisirter Form zu gewinnen.

Dieses so dargestellte „Blumengelb" krystallisirt in Nadeln, ist in Wasser unlöslich, leicht löslich in Alkohol, Aether, Chloroform, Petroläther und Schwefelkohlenstoff, und zeigt die für die gelben Pflanzenfarbstoffe charakteristischen Reactionen sich mit conc. Schwefelsäure blau und mit Jodkaliumlösung grün zu färben.

Die Lösung des Blumengelbs zeigt im Spectrum zwei Absorptionsstreifen zwischen den Linien F und G; im übrigen Spectrum findet keine Absorption statt. Die Lage der Bänder ist nicht bei allen gelben Blüthenfarbstoffen genau dieselbe, vielmehr treten merkliche Verschiebungen der Bänder ein, wesshalb Hansen dieselben für chemisch verschieden hält. Die Lösungen des Blumengelbs zeigen keine Fluorescenz.

Die gesättigt gelbe bis orange Farbe der Blumen ist durch eine dichtere Einlagerung des Farbstoffs in die Chromatoplasten bedingt.

Das in Wasser lösliche „Blumengelb" kommt ebenso wie das in Wasser lösliche „Blumenroth" in dieser Arbeit nicht in Betracht.

Von demselben Verfasser erschien 1889 eine Arbeit „Ueber die Farbstoffe des Chlorophylls", aus

welcher hier das über den gelben Chlorophyllfarbstoff Gesagte erwähnt sein mag.

„Zur Darstellung des gelben Chlorophyllfarbstoffes wird ein alkoholischer Pflanzenauszug mit Aetznatron in geringem Ueberschusse versetzt und ca. 3 Stunden zum Sieden erhitzt. Das Reactionsprodukt wird, nachdem $^2/_3$—$^3/_4$ des Alkohols abdestillirt sind, durch Einleiten von Kohlensäure von überschüssigem Natronhydrat befreit und zur Trockne gebracht. Diese so erhaltene Masse wird mit Aether extrahirt. Der aetherische Auszug enthält den gelben Farbstoff und zwei unverseifbare Substanzen (höhere Alkohole, hiervon einer mit dem Schmelzpunkte 70—71 °), von welch letzteren derselbe nach dem Verdunsten des Aethers durch Extraction mit möglichst wenig Aether-Petroläther befreit werden kann. Aus diesem Aether-Petroläther-Auszuge krystallisirt der Farbstoff beim Verdunsten des Lösungsmittels in orangerothen Krystallaggregaten aus, welche aus feinen Nadeln oder tafelförmigen Krystallen bestehen. Unter dem Mikroskope sehen die Krystalle fast roth aus, während der zurückbleibende unkrystallisirte Farbstoff gelb aussieht.

Wenn sich auch die Krystallisationsfähigkeit leicht beobachten lässt, so gelingt es nicht, eine vollständige Reindarstellung zu erreichen, da bei der obigen Krystallisation ein Theil in eine farblose krystallinische Substanz übergeht.

Der gelbe Farbstoff ist lichtempfindlich. Setzt man den Verdunstungsrückstand der Aether-Petroläther-Lösung mehrere Tage hellem Tageslichte aus, so verwandelt sich der gelbe Farbstoff in eine farblose krystallisirte Substanz, welche mit conc. Schwefelsäure und Chloroform die rothe Cholestearin-Reac-

tion giebt. Es lässt sich die Möglichkeit nicht leugnen, dass sich der Farbstoff unter Einwirkung des Lichtes in Cholestearin umwandelt.

Mit conc. Schwefelsäure giebt der Farbstoff eine schwarzblaue Färbung, welche allmählich unter Einwirkung des Lichtes in roth übergeht.

Das gelbe Chlorophyllspectrum besitzt in der rothen Spectralhälfte keine Bänder. Die vorhandenen Angaben, dass die gelben Pflanzenfarbstoffe auch Bänder im Roth erzeugen, beruhen darauf, dass den Lösungen grüner Chlorophyllfarbstoff beigemengt war. Der gelbe Farbstoff besitzt ein grosses Absorptionsvermögen für die violetten Strahlen. Der blaue und violette Theil des Spectrums wird schon durch verdünnte Lösungen vollständig absorbirt, erst in sehr grosser Verdünnung (0,006—100) treten Absorptionsbänder bei E und vor G auf, so dass sich eine vollständige spectroscopische Uebereinstimmung des gelben Chlorophyllfarbstoffs mit den gelben Blüthenfarbstoffen ergiebt.

Gegen ultraviolette Strahlen zeigt der Farbstoff ein grosses Absorptionsvermögen.“

Die oben bereits erwähnte geringe Kenntniss der Bestandtheile der Blüthen von Calendula officinalis, speziell des Farbstoffes, nicht minder die bestehenden unsicheren Angaben über das Carotin sowie die gelben Blüthenfarbstoffe, gaben Veranlassung, die Ringelblumen einer eingehenden Untersuchung zu unterziehen, welche auf Veranlassung von Herrn Professor Dr. A. Hilger durchgeführt wurde, und deren Resultate im Nachstehenden mitgetheilt werden.

Darstellung des Farbstoffes.

Die vollkommen getrockneten Blüthen der Ringelblume wurden, um das beste Lösungsmittel der färbenden Substanz zu vermitteln, mit Wasser, Alkohol und Aether extrahirt. Der wässrige Auszug zeigte eine wahrscheinlich von sonstigen Bestandtheilen herrührende schwach gelbe Färbung, während der alkoholische und der ätherische Auszug, besonders letzterer, intensive gelbrothe Färbungen aufwiesen; dementsprechend waren auch die durch Aether extrahirten Blüthen viel vollständiger entfärbt, als dies durch Alkohol der Fall war. Ein Versuch, ob neben dem durch Aether extrahirbaren Farbstoffe noch etwa ein in Alkohol löslicher vorhanden sei, hatte ein negatives Resultat.

Der eingedunstete ätherische Auszug besitzt eine gelbrothe Farbe, ist in den gewöhnlichen ätherischen Lösungmitteln wie Alkohol, Aether, Aceton, Chloroform je nach der Concentration mit gelber oder rothgelber Farbe löslich; in Schwefelkohlenstoff löst sich derselbe mit blutrother Farbe. Alkohol, Aether und Aceton lassen bei der Lösung einen minimalen Rückstand.

Das Bestreben war nun zunächst dahin gerichtet, den Farbstoff von den beigementen Stoffen (Fett, Wachs, Cholesterin u. s. w.) zu trennen, und wurde zu diesem Zwecke sein Verhalten gegen Kalihydrat

studirt. Es wurden Versuche mit verdünnten und concentrirten, wässrigen und alkoholischen Kalilösungen angestellt.

Bei der Anwendung wässriger Kalihydratlösung tritt die Unlöslichkeit des Farbstoffes in Wasser hindernd in den Weg, da hierdurch eine schnelle Einwirkung verhindert wird; arbeitet man mit alkoholischer Kalilauge, so tritt in der Kälte keine Reaction ein, wogegen schon durch ganz verdünnte Lösungen in der Siedehitze vollständige Verseifung bewirkt wird. Wendet man concentrirtere alkoholische Lösungen an, so tritt schon bald, namentlich aber bei längerer Einwirkung, eine tiefergehende Zersetzung ein, durch welche der Farbstoff zerstört wird, und aus welchen Reactionsprodukten man nach Entfernung der Seifen schön krystallisirende Körper erhalten kann.

Nachdem so festgestellt war dass schon verdünnte alkoholische Kalilösung wahrscheinlich eine Verseifung oder Isolirung der in dem ätherischen Extracte vorhandenen Fette oder Wachsarten bewirkt, concentrirtere dagegen namentlich bei längerer Einwirkung eine Zersetzung des Farbstoffes selbst hervorruft, wurde das Extract mit dem anderthalbfachen Volumen einer 5% alkoholischen Kalilauge eine halbe Stunde gekocht; um eine Einwirkung des Kalihydrats schon vor dem Kochen zu vermeiden, und so die Zeit der Einwirkung besser bestimmen zu können, wurde das Extract in obiger Menge siedenden Alkohols gelöst, und erst hierauf die entsprechende Quantität Kalihydratlösung zugegeben.

Das Produkt der Kaliwirkung wurde in einer Porzellanschale bei einer Temperatur, welche weiteres

Sieden verhinderte, bis auf $^1/_2$ Volumen eingedampft, und nach Zugabe von Wasser, wodurch eine emulsionsartige Mischung entsteht, zur Sättigung des etwa überschüssigen Kalihydrates in der Siedehitze Kohlensäure eingeleitet. Das Ersetzen des Alkohols durch Wasser hat den Zweck, eine zu weit gehende Einwirkung des überschüssigen Alkalis zu verhindern; aus demselben Grunde ist auch das Einleiten von Kohlensäure erforderlich, da bei dem nachfolgenden Austrocknen der Masse leicht weitere Reaction stattfinden kann.

Dieses Austrocknen des mit grobkörnigem Quarz vermischten Verseifungsproduktes geschah zuerst bei 100°; nachdem sich jedoch herausgestellt hatte, dass durch eine höhere Temperatur eine Veränderung des Farbstoffes nicht bewirkt wird, wurde dasselbe auf einem Sandbade bei mässiger Hitze unter stetem Umrühren zur Trockne gebracht. Ein vollständiges Austrocknen ist unbedingt nöthig, da anderenfalls bei der nachfolgenden Extraction ein Theil der gebildeten Kaliverbindungen in die Farbstofflösung eingeht.

Als Lösungsmittel für das ursprüngliche ätherische Extract hatte sich Schwefelkohlenstoff als sehr schnellwirkend erwiesen und wurde dieser desshalb bei der nachfolgenden Extraction des Farbstoffes angewandt. Als Extractionsaparat kann bei kleinen Quantitäten recht gut ein Soxhlet'scher Apparat dienen, in unserem Falle fand ein grösserer Extractionsapparat aus Kupfer Verwendung.

Wendet man bei der Verseifung des ätherischen Extractes sofort eine genügende Menge Kalihydrates an, so hinterbleibt nach stattgefundener Extraction und nach dem Verdunsten des Schwefelkohlenstoffs eine feste harzartige Masse zurück, welche in sieden-

dem Aceton gelöst beim Auskühlen einen krystallinischen Körper ausscheidet.

Bei unserer Verseifung war eine zur vollständigen Verseifung nicht hinreichende Menge von Kali anwesend gewesen, der Schwefelkohlenstoff-Auszug hinterliess nach dem Verdunsten eine Masse von schmieriger Beschaffenheit, welch letztere nur durch Anwesenheit weiterer durch Kali nicht angegriffener Substanzen bedingt sein konnte. Es war also eine zweite Einwirkung von Kalihydrat erforderlich.

Ehe wir jedoch zu dieser zweiten Verseifung schritten, suchten wir die Masse von dem Körper zu befreien, welcher sich, wie oben bemerkt, aus siedendem Aceton beim Erkalten ausscheidet. Zu diesem Zwecke wurde dieselbe mit siedendem Aceton behandelt und nach erfolgter Lösung durch einen Heisswassertrichter filtrirt.

Diese heisse Acetonlösung scheidet schon bald beim Auskühlen einen äusserst voluminösen Körper ab, welcher nach 24stündigem Stehen durch Filtration von der Farbstofflösung getrennt wurde. Nach Abdestillation des Acetons von dem Filtrate liessen wir die rückständige Masse einige Tage unter 0° stehen, um eine etwaige weitere Abscheidung obigen Körpers abzuwarten; es war jedoch nur noch eine minimale Krystallisation zu bemerken, welche durch Filtration von der in kaltem Aceton gelösten Masse befreit wurde. Versuche ergaben, dass dieser Körper in kaltem Aceton fast unlöslich ist, und konnten wir in Folge dessen sicher sein, das Verseifungsprodukt hiervon vollständig befreit zu haben.

Nach vollständiger Entfernung des Acetons wurde der Rückstand zum zweiten Male einer Einwirkung von Kali unterworfen; dieselbe wurde ebenso

wie dies zum ersten Male geschehen ausgeführt, mit dem einzigen Unterschiede, dass jetzt nur die Hälfte der ersten Menge Kalihydratlösung zugegeben wurde.

Wenn man nun in diesem Reactionsprodukte den Alkohol durch Wasser ersetzt, bemerkt man, wie sich eine zusammenhängende Masse ausscheidet, die sich in lange in der Kälte brüchig werdende Fäden ausziehen lässt. Hierdurch ergab sich eine naturgemässe Umänderung des bisher eingeschlagenen Verfahrens; ebensogut, wie wir vorher aus der verseiften, emulsionartigen, eingetrockneten Masse den Farbstoff durch Schwefelkohlenstoff extrahirt hatten, konnten wir jetzt die Seifen durch kochendes Wasser aus dem bei dieser Temperatur flüssigen Farbstoffe ausziehen.

Zu diesem Zwecke wurde das durch die Kalieinwirkung erhaltene Produkt so oft mit Wasser ausgekocht, bis letzteres keine gelbliche Färbung mehr annahm.

Lässt man den so erhaltenen Farbstoff einige Zeit in kaltem Wasser liegen, so nimmt derselbe allmählich eine harte spröde Beschaffenheit an; da derselbe aber bei gewöhnlicher Temperatur, wie besonders auch in der Handwärme immer noch erweichte, auch die entstandenen in Wasser löslichen Produkte keineswegs alkalische Reaction zeigten, wie dies bei Anwendung überschüssiger Kalihydratlösung der Fall gewesen wäre, so mussten wir annehmen, dass dem Farbstoff noch weitere fremde Substanzen beigemischt seien, wenn letztere auch nur noch in geringer Menge vorhanden sein konnten.

In Folge dieser Thatsachen wurde eine dritte Einwirkung von Kali für nöthig gehalten. Um hierbei jedoch einen Ueberschuss von Alkali möglichst

zu vermeiden, und, sollte letzteres im Ueberschusse vorhanden sein, dessen Einwirkung auf den Farbstoff so gut es anging zu verhindern, wurde das durch die zweite Verseifung erhaltene Produkt in $^1/_2$ Volumen Alkohols gelöst, und dieser Lösung soviel conc. Kalihydratlösung zugegeben, dass das Kali einem Procente des angewandten Alkohols entsprach; die Dauer der Einwirkung betrug zehn Minuten.

Ersetzt man in diesem Reactionsprodukt den Alkohol durch Wasser, so scheidet sich beim Erkalten der Farbstoff in harten spröden Krusten ab, welche wieder wie oben von in ganz geringer Menge gebildeten Seifen befreit werden.

Diese so erhaltene Masse ist in kaltem Aceton vollkommen lölich.

In Betreff des aus siedendem Aceton sich abscheidenden oben erwähnten Körpers konnten Zweifel bestehen, ob derselbe bereits ein Zersetzungsprodukt des Farbstoffes, oder ein a priori in den Blüthen neben dem Farbstoffe vorhandener Körper sei. Wäre ersteres der Fall, so müsste man annehmen, dass auch durch die zweite Verseifung eine gewisse Menge dieses Körpers entstanden sei. Da letzteres nicht stattfindet, so muss man unbedingt diese Substanz als einen Bestandtheil der Blüthen neben dem Farbstoffe gelten lassen.

Der Farbstoff stellt in dieser Weise gereinigt eine harte, spröde corallenrothe undurchsichtige Masse dar, welche noch ziemlich viel Wasser eingeschlossen enthält; ausserdem haftet demselben ein eigenthümlicher, besonders beim Erwärmen hervortretender Geruch an. Zur Vertreibung des letzteren wurde der Farbstoff mit überhitzten Wasserdämpfen behandelt; das hierdurch gewonnene Destillat besitzt einen süss-

lichen Geschmack und nicht unangenehmen intensiven Geruch; dasselbe scheidet in der Kälte an der Oberfläche kleine, bald schmierig werdende Oeltröpfchen aus, welche sich aber wegen ihrer sehr geringen Menge zur weiteren Untersuchung nicht eigneten.

Zur Befreiung von eingeschlossenem Wasser wurde der Farbstoff in einer grösseren Trocken-Ente im Wasserstoffstrome getrocknet; es geschah dieses Trocknen in einem Paraffinbade, dessen Temperatur auf 115°, nachdem fast keine Wasserdämpfe mehr entwichen, kurze Zeit auf 130° gehalten wurde.

Der so getrocknete Farbstoff stellt nach dem Erkalten eine vollständig durchsichtige orangerothe Masse dar von spröder Consistenz, löslich in geringer Menge mit gelber Farbe in Alkohol, Aether, Chloroform, Aceton; in stärkerer Concentration wird die Farbe gelbroth. Concentrirte Schwefelsäure bewirkt eine tiefdunkelblaue Lösung, welche auf Wasserzusatz amorphe grüne Flocken ausscheidet. Aus keinem der oben genannten Lösungsmittel konnte aus dem Farbstoffe eine partielle Abscheidung erzielt werden. Verdunstet man die Lösungen, so scheidet sich der Farbstoff amorph in harten Krusten ab.

Der Schmelzpunkt liegt bei 44°.

Ausgeführte Elementaranalysen ergaben:

I. Angewandte Substanz 0,1805,

gef. CO_2 0,491
C 0,1339
= 74,2%,
gef. H_2O 0,172
H 0,0191
= 10,5%.

II. Angewandte Substanz 0,2482,
gef. CO_2 0,7317
C 0,1996
= 74,4%,
gef. H_2O 0,2365
H 0,0263
= 10,5%.

Untersuchung der durch Einwirkung von Kali erhaltenen löslichen Produkte: Seifen.

Nach der Extraction der zur Trockne gebrachten, durch die erste Kalieinwirkung entstandenen Produkte waren die Seifen mit Sand gemischt im Extractionsrückstande. Um dieselben hieraus zu gewinnen, wurde dieser Rückstand nach vollständiger Entfernung des anhaftenden Schwefelkohlenstoffs mit Wasser ausgekocht, und die so erhaltene Lösung mit derjenigen vereinigt, welche, wie schon bei der Darstellung des Farbstoffes erwähnt, nach der zweiten Verseifung direkt durch Auskochen des Farbstoffes mit Wasser erhalten wurde.

Nach längerem Stehen, bei welchem sich ein leicht durch das Filter gehender Bodensatz von fein vertheiltem Farbstoff bildet, wurden diese so vereinigten Auszüge filtrirt, und nach dem Eindunsten auf ein kleineres Volumen bei einer Temperatur von 60—70° durch verdünnte Schwefelsäure zersetzt.

Beim Erkalten scheiden sich die durch die Säure zersetzten Produkte als feste Schicht auf der Oberfläche der Flüssigkeit aus, und können so von letzterer leicht getrennt werden. Da diese Substanzen jedoch, wie sich herausstellte, noch bedeutende Mengen von Seifen eingeschlossen hielten, so wurden dieselben nochmals in einem mit Rückflusskühler versehenen Kolben längere Zeit in der Siedehitze mit verdünnter Schwefelsäure behandelt.

Versuche, die nach dem Erkalten sich abscheidenden stark gefärbten Substanzen durch Thierkohle zu entfärben, waren erfolglos; dagegen erwies sich eine Destillation im luftverdünnten Raume zur Reinigung als sehr vortheilhaft. Es geschah dies aus einer schwerschmelzbaren Glasretorte in eine ebensolche Vorlage, welche durch ein Vacuumeter mit einer starkwirkenden Saugpumpe verbunden war. Der Druck während der Destillation betrug 250 mm. Mit dieser Destillation wurde eine Fractionirung verbunden.

Das zuerst in geringer Menge übergehende flüssige Destillat zeigt einen äusserst scharfen penetranten Geruch; bei ca. 120° beginnt die Destillation eines in der Vorlage erstarrenden festen Körpers. Das Thermometer steigt nur langsam bis auf 212° und bleibt auf dieser Höhe bis zum Schlusse der Destillation stehen. Bei dieser Temperatur destillirt zuerst eine grosse Menge einer festen, hierauf eine flüssige Masse über.

Auf diese Weise wurden drei Fractionen erhalten, welche alle den unangenehmen, dem ersten Destillate anhaftenden Geruch zeigen. Die erste Fraction enthält das bis 120° Uebergehende, die zweite die festen von 120—212° übergehenden Substanzen,

und endlich die dritte die bei 212° destillirenden Produkte, welche letzteren sich in eine zuerst siedende feste und eine flüssige Menge scheiden.

Als Rückstand bleibt in der Retorte eine harte harzartige Masse, aus welcher durch siedenden Alkohol nur Spuren von Fettsäuren aufgenommen werden.

In der ersten Fraction, welche ammoniakalische Silberlösung reducirt, war es unmöglich, eine bestimmte Thatsache über deren Bestandtheile festzustellen.

Aus dem zweiten und dem festen Antheile der dritten Fraction werden nach dem Auflösen in heissem Alkohol und Erkaltenlassen krystallinische Produkte erhalten, welche leicht von dem anhaftenden Alkohol durch Absaugen getrennt werden können.

Zur weiteren Reinigung und Isolirung wurden diese erhaltenen Produkte einzeln in Alkohol gelöst und mit der zur Verseifung genügenden Menge alkoholischer Kalilösung versetzt, um nach dem Eintrocknen einer Auskochung mit Petroläther unterworfen zu werden. Bei dieser Arbeit lösen sich die Seifen zu einem gewissen Theile in dem Petroläther auf und scheiden sich beim Erkalten wieder gallertartig ab; in diesem Zustande wurden dieselben durch Filtration von dem Petrolätherauszuge getrennt und so lange ausgewaschen, bis das Filtrat keinen Verdunstungsrückstand mehr hinterliess.

Der Petrolätherauszug hinterlässt beim Eindunsten geringe Mengen einer braunen dickflüssigen Masse von eigenthümlichem Geruche. Dieselbe scheint identisch zu sein mit derjenigen Substanz, welche der dritten Fraction als Flüssigkeit beigemischt war. Aus beiden Produkten konnte durch keine Operation ein krystallisationsfähiger Körper gewonnen werden.

Nachdem die so gereinigten Seifen getrocknet, wurden dieselben durch verdünnte Schwefelsäure in der Siedehitze zerlegt, die sich als feste Schicht abscheidenden Fettsäuren zur Befreiung von Wasser in möglichst wenig Aether gelöst, und nach dem Verdunsten des letzteren die so erhaltenen festen, fast weissen Massen in einer reichlichen Menge Alkohol aufgenommen.

Aus diesen alkoholischen Lösungen wurden durch eine 70% Alkohol enthaltende Baryumacetatlösung fractionirte Fällungen erhalten, welche mit Alkohol ausgewaschen und auf Thontellern getrocknet wurden.

Die aus diesen trockenen Baryumsalzen durch Salzsäure wieder abgeschiedenen Fettsäuren zeigten nach dem Aufnehmen in Aether und Verdunsten des letzteren folgende Schmelzpunkte:

Aus Fraction II.		Aus Fraction III.	
Fällung	Schmelzpunkt	Fällung	Schmelzpunkt
a	52,5°	a	52,5°
b	48°	b	52,5°
c	42,5°	c	50°
		d	43°

Die Säuren vom Schmelzpunkte 52,5° ebenso wie diejenigen vom Schmelzpunkte 42,5 und 43° wurden vereinigt, um nach der Umkrystallisation aus Alkohol durch Darstellung ihrer Blei- und Barytsalze einer Moleculargewichtsbestimmung unterzogen zu werden.

Die Ausführung dieser Bestimmungen geschah in der Weise, dass die in Alkohol gelösten Säuren mit einer (überschüssigen) 70% Alkohol enthaltenden Baryum- resp. Bleiacetat-Lösung gefällt wurden. Diesen Fällungen wurde ein gleiches Volumen Wasser

zugegeben, um eine gleichzeitige Ausscheidung der in Alkohol schwer löslichen Acetate zu verhindern. Nach längerem Stehen wurden die so erhaltenen Niederschläge abfiltrirt, ausgewaschen, getrocknet und zur Zerstörung der organischen Substanz geglüht. Die Baryumniederschläge wurden hierauf sofort in die Sulfate übergeführt, während die Bleifällungen vorher in die Nitrate verwandelt wurden.

I. Säuren mit dem Schmelzpunkte 43°.

Baryumbestimmung:

Angewandt 0,2412 gr
gefunden 0,1459 $BaSO_4$
0,085 Ba
= 26,11 %.

Bleibestimmung:

Angewandt 0,1808
gefunden 0,1313 $PbSO_4$
0,0895 Pb
= 33,2 %.

Laurinsäure verlangt:

25,42 % Ba
34,1 % Pb.

II. Säuren mit dem Schmelzpunkte 52,5°.

Barytbestimmung:

Angewandt 0,2358 gr
gefunden 0,1195 $BaSO_4$
0,07 Ba
= 22,9 %.

Bleibestimmung:

Angewandt 0,1557
gefunden 0,1015 $PbSO_4$
0,0695 Pb
= 30,86 %

Myristinsäure verlangt:

23,18 % Ba

31,2 % Pb.

Nach diesen Untersuchungen sind wir wohl berechtigt, die erhaltenen Säuren für Laurinsäure und Myristinsäure zu halten.

Prüfung auf Glycerin.

Bei der Zersetzung der ursprünglich erhaltenen Seifen durch verdünnte Schwefelsäure, scheiden sich beim Erkalten, wie oben bereits bemerkt, die Fettsäuren als feste Schicht auf der Oberfläche der Flüssigkeit ab, und können so leicht von derselben getrennt werden.

Beim Eindunsten der hierbei zurückbleibenden gelben, vollständig klaren Flüssigkeit scheidet sich auf der Oberfläche noch eine geringe Menge flüssiger Fettsäuren aus. Um die Verflüchtigung derselben zu verhindern, wurde vor dem Eindampfen zur Trockne mit kohlensaurem Natron übersättigt, und, nachdem die Lösung eine genügende Concentration zeigte, nach schwacher Uebersättigung mit verdünnter Schwefelsäure mit Aether extrahirt. Dieser Auszug hinterlässt beim Verdunsten eine Masse schmieriger Consistenz, welche in Alkohol gelöst und mit Kali neutralisirt wieder zur Trockne gebracht wurde. Diese so erhaltenen fettsauren Salze wurden einer

direkten Destillation mit verdünnter Schwefelsäure unter Ersetzung des verdampfenden Wassers unterworfen. Es gingen nur geringe Mengen einer fast farblosen öligen Flüssigkeit über, welche durch Ausschütteln mit Aether von Wasser befreit und sodann mit Kali neutralisirt wurde.

Prüfungen dieser so erhaltenen Salze auf die Anwesenheit unzersetzt destillirbarer niedriger Fettsäuren, wie Ameisensäure, Essigsäure, Buttersäure hatten ein negatives Resultat.

Zur Prüfung auf Glycerin wurde die, wie oben angegeben, vollständig von Fettsäuren befreite Masse zur Trockne eingedampft und dieser Trockenrückstand mit einem Gemische von $^2/_3$ Volumtheilen Alkohol und $^1/_3$ Volumtheil Aether extrahirt. Diese Extraction wurde dreimal wiederholt. Der Verdunstungsrückstand wurde einer Destillation mit überhitzten Wasserdämpfen unterworfen. Das auf diese Weise erhaltene Destillat, welches schwachen, beim Eindunsten bald verschwindenden Geruch zeigt, verflüchtigt sich bei 100° vollständig, so dass die Anwesenheit von Glycerin als ausgeschlossen betrachtet werden muss.

Untersuchung des aus siedendem Aceton sich ausscheidenden Körpers.

Die Schwerlöslichkeit dieses Körpers in kaltem Aceton, seine leichte Löslichkeit in siedendem Aceton wurde benutzt, denselben durch Umkrystallisation aus siedendem Aceton von beigemischtem Farbstoff zu reinigen. Wie die erhaltenen Produkte zeigten, ist dieses jedoch nur theilweise möglich, da die Substanz mit Hartnäckigkeit die letzten Antheile Farbstoff zurückhält, indem letzterer sich beim Erkalten der Acetonlösungen wieder zusammen mit obigem Körper ausscheidet.

Nach sechsmaliger Umkrystallisation erhielten wir ein äusserst voluminöses, etwa citronengelb gefärbtes Produkt, welches sich gegen alle Reagentien äusserst beständig zeigt; so konnten mit conc. Kalihydratlösung, conc. Schwefelsäure, conc. Salpetersäure in der Kälte sowohl wie in der Wärme keine Spaltungsprodukte resp. Umwandlungsprodukte erhalten werden. Auf Platinblech erhitzt, schmilzt derselbe sehr leicht und verbrennt schliesslich vollständig mit leuchtender Flamme.

Um über die Zusammensetzung in etwa orientirt zu sein, wurde der Körper einer Elementaranalyse unterworfen, welche folgendes ergab:

Angewandt 0,18 gr
gef. CO_2 0,5575
C 0,151
= 83,38 %,
gef. H_2O 0,234
H 0,026
= 14,44 %.

Der geringe, durch die Analyse gefundene Sauerstoffgehalt legte es nahe, in dieser Substanz einen Kohlenwassersoff zu vermuthen, und ergab sich hierdurch ein einfaches Verfahren, denselben von dem noch in geringer Menge anhaftenden Farbstoffe zu befreien.

In einer schwer schmelzbaren Retorte wurde derselbe unter 300 mm Druck einer Destillation unterworfen; der Siedepunkt bei obigem Druck liegt über 360°. Soweit zu beobachten war, schienen Substanzen von verschiedenen Siedepunkten überzugehen und zwar wurden drei Fraktionen bemerkt.

Das Destillationsprodukt hat eine schwach gelbliche Farbe und vollständig paraffinartiges Aussehen. Durch Umkrystallisation aus siedendem Aceton und nachfolgendes Auswaschen mit kaltem Aceton konnte dasselbe in rein weissen krystallinischen Blättchen erhalten werden.

Die Elementaranalyse dieses so gereinigten Körpers ergiebt folgendes:

Angewandt	0,172 gr
gef. CO_2	0,5397
C	0,1472
	= 85,61 %,
gef. H_2O	0,2304
H	0,0256
	= 14,53 %.

Durch diese gefundenen Zahlen konnte kein Zweifel darüber bestehen, dass unsere Substanz ein Kohlenwasserstoff oder ein Gemenge von solchen sei, welche der Fettreihe angehören.

Der Schmelzpunkt, zu 63° gefunden, scheint auf Kohlenwasserstoffe mit ca. 30 Kohlenstoffatomen hinzudeuten.

Zersetzung des gewonnenen Farbstoffes.

Durch am Anfange in dieser Arbeit schon erwähnte Vorversuche wurde bereits constatirt, dass eine längere Einwirkung von Kalihydrat besonders in conc. Lösung zersetzend auf den Farbstoff einwirkt; es war uns interessant genug, diese Zersetzungsprodukte näher kennen zu lernen.

Zu diesem Zwecke wurden 75 gr des Farbstoffes in 300,0 gr Alkohol gelöst und dieser Lösung eine dem Farbstoff gleiche Menge Kalihydrat zugegeben. Dieses Gemisch wurde 60 Stunden gekocht; es scheint jedoch, dass nach 15 stündigem Kochen oder noch vorher bereits ein Gleichgewichtszustand eingetreten ist, da sowohl bei längerem Sieden die Masse nach dem Erkalten keine festere Consistenz annimmt, als auch eine Aenderung in der Farbenintensität nicht zu bemerken ist.

Nach dieser Behandlung stellt das erkaltete Gemenge eine fast feste Masse dar. Diese wurde nach dem Verdunsten des Alkohols wiederholt mit Wasser ausgekocht. Diese wässrigen Auszüge enthalten keine Spur von Seifen, so dass unser gewonnener Farbstoff vollständig frei von Fettsäuren gewesen sein muss.

Das Gewicht des nach dem Auskochen mit Wasser erhaltenen festen, spröden Produktes beträgt 73 gr; da dasselbe sich frei von anorganischer Substanz erweist, also irgendwelche Kaliverbindungen nicht enthält, so müssen alle durch Zersetzung des Farbstoffes erhaltenen Produkte hierin enthalten sein.

Durch Digestion mit Thierkohle lässt sich die alkoholische Lösung dieser Zersetzungsprodukte leicht von noch anhaftendem unverändertem Farbstoffe vollständig befreien. Die so erhaltene farblose Lösung wurde einer fraktionirten Krystallisation unterworfen.

Die zwei ersten hierbei entstehenden Fraktionen, beide den Schmelzpunkt 198° zeigend, wurden vereinigt, und durch Umkrystallisation aus Alkohol gereinigt. Das durch diese Krystallisationen erhaltene Produkt stellt sehr harte farblose rhombische Blättchen dar, welche bei 100°, auch schon über Schwefelsäure leicht ihr Krystallwasser verlieren und einen Schmelzpunkt von 209° zeigen.

Zur Bestimmung des Krystallwassergehaltes wurde dieser Körper nach dem Abtupfen mit Fliesspapier bei 110° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet; 0,8583 angewandte Substanz zeigen 0,0836 Gewichtsverlust.

So getrocknet wurde mit demselben eine Elementaranalyse ausgeführt, deren Resultat folgendes ist:

I. Angewandt 0,2305
gef. CO_2 0,679
C 0,185
= 80,26 %,
gef. H_2O 0,2355
H 0,0262
= 11,36 %.

II. Angewandt 0,198
gef. CO_2 0,5835
C 0,159
= 80,31 %,
gef. H_2O 0,195
H 0,022
= 11,11 %.

Da wir in dem Körper ein Cholesterin vor uns zu haben glaubten, wurden die wichtigeren Cholesterin-Reactionen mit demselben ausgeführt.

In minimaler Menge löst sich derselbe in conc. Schwefelsäure mit rosa Farbe auf, in grösserer Menge wird die Farbe gelbroth; beide Lösungen zeigen sehr starke grüne Fluorescenz. Ebenso verhält sich derselbe nach dem Auflösen in Chloroform beim Schütteln mit conc. Schwefelsäure; das überstehende Chloroform bleibt auch nach längerem Stehen unverändert.

Geringe Mengen der Substanz mit conc. Salpetersäure auf dem Wasserbade eingedunstet färben sich gelb, nach Zusatz von Ammoniak gelbroth.

Eine conc. Lösung des Körpers in Essigsäureanhydrid färbt sich nach Zugabe von conc. Schwefelsäure dunkel rosenroth, bei längerem Stehen violett, schliesslich blau.

In Chloroform gelöst, mit zwei Tropfen Eisenchloridlösung und einem Tropfen conc. Salzsäure versetzt und auf dem Wasserbade bis fast zur Trockne eingedunstet, tritt am Rande eine violette Färbung auf; setzt man nochmals Chloroform zu und verdunstet bis zur vollständigen Trockne, so hinterbleibt eine grünliche Masse, welche bei weiterem Erhitzen bis zum Schmelzen in purpurviolett, bei stärkerem Erhitzen in grün übergeht. Das Endprodukt löst sich in conc. Schwefelsäure mit rother Farbe.

Um ein etwaiges Drehungsvermögen festzustellen, wurden 1,25 gr wasserhaltiger Substanz in 23,5 ccm Aether gelöst, und diese Lösung in einem Wildtschen Polaristrobometer untersucht. Der Drehungswinkel beträgt bei 200 mm Schichtlänge $3^{0}\ 40'$ woraus sich $(\alpha)_{D}$ zu 36,83 berechnet.

Da die durch die Elementaranalyse erhaltenen Resultate sehr nahe mit der Formel $C_{26}H_{44}O_2$ übereinstimmen, können wir dieses durch Zersetzung des Farbstoffes erhaltene Produkt nur für ein Cholesterin halten, und zwar für ein Cholesterin, welches im Molekül wahrscheinlich zwei Hydroxylgruppen enthält. Die Formel $C_{26}H_{44}O_2$

verlangt	gefunden
80,24 % C	80,26 %—80,31 % C
11,34 % H	11,36 %—11,11 % H.

Auf diese Zusammensetzung berechnet ergiebt sich der Krystallwassergehalt zu zwei Molekülen. Der Schmelzpunkt wurde, wie oben angegeben, zu 209° gefunden.

Optische Untersuchungen.

A. Spectralanalytische.

Die optischen Unterschuungen wurden im physikalischen Institute unter Leitung von Herrn Prof. Dr. Wiedemann ausgeführt.

Zu den spectralanalytischen Arbeiten diente ein Steinheil'scher Spectralapparat, an welchem sich eine von Herrn Prof. Dr. Wiedemann gegebene Anordnung findet, durch welche alles überflüssige, störend wirkende Licht abgehalten wird, und welche es zugleich gestattet, durch einen leicht-beweglichen Schlittenapparat sechs verschiedene Flüssigkeiten in

rascher Aufeinanderfolge zu untersuchen, wodurch ein besserer Vergleich der verschiedenen Spectren ermöglicht wird.

Die Skala des Apparates enthält 500 Theilstriche, und wurde dieselbe nach genauer Justirung mit der Natriumlinie auf 152 eingestellt und blieb so für alle Untersuchungen, für welche ausschliesslich Gaslicht angewendet wurde, fest mit diesem Skalentheile verbunden.

Die Kurve der Wellenlängen wurde nach charakteristischen Linienspectren gezeichnet, indem die Angstroem'schen Wellenlängen als Norm angenommen wurden. Die Lage der Linien nach der Skala des benutzten Apparates war folgende:

	Skalentheile	Wellenlänge in $\mu\mu$
Kα	70	768
Li	106	670,8
Hα	114	656,3
Na	152	589,3
Tl	196	534,9
Hβ	253	486
Srδ	290	460,7
Hγ	341	434
Kβ	412	404.

So eingestellt, erstreckt sich das Roth des Spectrums bis zum Skalentheile 110, orange bis 140, gelb bis 175, grün bis 240, blau bis 290.

Als gewöhnliches Lösungsmittel wurde Aether angewandt, nur bei der Untersuchung des gewonnenen Farbstoffes wurden mit anderen Lösungsmitteln Versuche angestellt.

Die Dicke der durchstrahlten Schicht beträgt immer 4 mm.

Zuerst wurde das ursprüngliche ätherische Ex-

tract der Ringelblumen näher untersucht. Dieses Extract zeigt in 2% Lösung zunächst einen Absorptionsstreifen im Roth zwischen den Skalentheilstrichen 108 und 119 (λ 648—679); vergleicht man diese Absorption mit der gleichen beim Chlorophyll im Roth stattfindenden Absorption, so findet man, dass beide nicht identisch sind; letztere zeigt ihr Maximum zwischen 100 und 113 (λ 655—685) und schattirt sich nach beiden Seiten hin langsam ab, während der gefundene Absorptionsstreifen theilweise nach dem rothen Theile des Spectrums mit demjenigen des Chlorophylls zusammenfallend, mehr nach dem violetten Ende des Spectrums hin verschoben erscheint. Es scheint nicht unwichtig, dieses festzustellen, um die Anwesenheit von Chlorophyllfarbstoff, wie solcher leicht durch die Anwesenheit von Blüthenkelchen in den zu extrahirenden Blumen in den ätherischen Auszug gelangen konnte, auszuschliessen.

Ausser diesem Absorptionsstreifen zeigt dieselbe Lösung noch eine vollständige Absorption vom Theilstriche 194 (λ 535) an, während auch schon weiter im Grünen eine Verdunkelung des Spectrums eintritt. Bei grösserer Concentration tritt Zunahme der Absorption nach Roth hin, bei geringerer Concentration findet Abnahme der Absorption statt.

Eine weitere Untersuchung wurde mit dem ätherischen Extracte nach der ersten Verseifung angestellt, nachdem die Seifen sowohl, wie auch der aus siedendem Aceton sich abscheidende Körper entfernt waren. Es zeigte sich bei einer 2%igen Acetonlösung, dass der im ursprünglichen ätherischen Extracte im Roth auftretende Absorptionsstreifen bedeutend an Intensität verloren hatte, während die Absorption nach dem violetten Ende hin eine unge-

fähr gleich starke wie vorher war. Nach der zweiten und dritten Verseifung ist dieser Absorptionsstreifen nicht mehr zu bemerken.

Nach diesen Untersuchungen werden also nur in dem ursprünglichen ätherischen Extracte und in geringerem Grade auch noch in der nach der ersten Verseifung erhaltenen Masse überwiegend Schwingungen ausgeführt, welche die beobachtete selective Absorption im Roth bedingen, Schwingungen, welche dagegen in dem gewonnenen reinen Farbstoffe nicht mehr ausgeführt werden, so dass wir diese Schwingungsperioden und damit das Zustandekommen jenes Absorptionsstreifens einem Verbindungsprodukte der Fettsäuren mit dem Farbstoffe zuschreiben müssen.

Um darüber Aufschluss zu erhalten, ob bei den Verseifungsprocessen der Farbstoff eine etwaige Zersetzung erfahren hat oder nicht, vielmehr schon in der Fettsäureverbindung in der Form vorhanden ist wie als reiner Farbstoff, habe ich folgende Untersuchungen angestellt mit dem ursprünglichen ätherischen Extracte und dem gewonnenen Farbstoffe:

Aetherische Lösungen

% -Gehalt	λ in $\mu\mu$	Skalentheilstriche beginnender vollständiger Absorption.
$^1/_2$	520	215
1	527	206
1,5	532	202
2,5	536	196
3,5	540	192
4,5	542	190
5	544	189.

% -Gehalt	λ in $\mu\mu$	Skalentheilstriche beginnender vollständiger Absorption.
Aceton-Lösungen des gewonnenen Farbstoffes		
1,5	536	196
2,5	540	192.
Schwefelkohlenstoff-Lösungen des gewonnenen Farbstoffes		
1,5	562	168
2,5	571	165.

Es nimmt also die Absorption mit steigender Concentration der Lösungen stets nach dem rothen Ende des Spectrums hin zu, und zwar, was wesentlich ist, in der Fettsäureverbindung und im Farbstoffe in ganz derselben Weise. Wären aber die Fettsäuren in ihrer Verbindung mit dem Farbstoffe in Bezug auf diese Absorption im violetten Theile lediglich als Chromoplasten vorhanden, so müssten wir unbedingt mit dem reinen Farbstoffe eine weitergehende Absorption nach dem rothen Ende des Spectrums hin erhalten, als mit dem Gemische des Farbstoffes und der Fettsäuren. Es muss also ebenso wie die Absorption im rothen, auch die Absorption im violetten Theile des Spectrums theilweise durch eine innige Verbindung des Farbstoffes mit den Fettsäuren bedingt sein, so dass auch in Bezug auf diese Absorption letztere nicht die Rolle von Chromoplasten spielen, sondern mit dem Farbstoffe vereint eine chromophore Gruppe darstellen.

Um den Grenzwerth festzustellen, dem die Absorption des Farbstoffes bei fortgesetzter Concentration zustrebt, wurde derselbe in Substanz auf eine Glasplatte ausgegossen; die Dicke der zu durchstrahlenden Schicht betrug 1,1 mm. Es zeigte sich eine

vollständige Absorption des Spectrums bis 141 (λ 609) hin, sodass also schliesslich nur noch die rothen und orange Strahlen sichtbar bleiben.

Untersucht man die Lösungen des Farbstoffes in doppelter, also 8 mm, Schicht, so findet stets eine weitere Absorption nach dem rothen Theile des Spectrums hin statt, die der Vergrösserung der Concentration um ebensoviel entspricht.

Ebenso zeigen auch die gleich concentrirten Lösungen in Aceton und Schwefelkohlenstoff, besonders in letzterem, der Kundt'schen Regel folgend, eine bedeutende Verschiebung der Absorptionsgrenze nach Roth hin.

B. Prüfung des Farbstoffes auf Fluorescenz.

Es wurden auch die Lösungen des ätherischen Extractes und des gewonnenen Farbstoffes auf Fluorescenz untersucht. Zu diesem Zwecke wurden einhalbprocentige Lösungen angefertigt; dieselben wurden in Glasröhren von 100 mm Länge und 14 mm lichter Weite gefüllt, welche an beiden Seiten durch planparallele, 1,2 mm dicke Spiegelglasplatten geschlossen waren. Als Lichtquelle diente eine Schukert'sche Bogenlichtlampe von ca. 1200 Kerzenstärke, deren Licht durch ein geeignetes Linsensystem concentrirt in der Axenrichtung auf die Röhren fiel. Die Beobachtung geschah durch ein H. W. Vogel'sches Spectroscop mit grader Durchsicht. Bei der Extractlösung reichte das durchgehende Licht von

λ 690—618, bei λ 655 war der oben erwähnte Absorptionsstreifen deutlich sichtbar.

Die Abwesenheit jeder Spur von Fluorescenz wurde dadurch festgestellt, dass man mit diesem Absorptionsspectrum dasjenige verglich, welches das durch das Rohr gehende Strahlenbündel von der Seite und von vorne betrachtet erkennen liess.

In derselben Weise liess sich nachweisen, dass auch bei den Lösungen des reinen Farbstoffes in Aether sowohl, wie in Aceton und Schwefelkohlenstoff, unter denselben Verhältnissen keine Fluorescenz vorhanden ist.

Fassen wir die aus dieser Arbeit sich ergebenden Resultate kurz zusammen, so ergiebt sich Folgendes:

1. Der in den Blüthen der Ringelblume enthaltene Farbstoff kommt in denselben als Cholesterinester hauptsächlich der Laurin- und Myristin-Säure vor; diese Fettsäuren dienen nicht allein als Chromoplasten, sondern tragen, wie das optische Verhalten zeigt, im gewissen Grade mit zur Farbstoffbildung bei.

Dass die Fettsäuren als solche mit dem Farbstoffe chemisch verbunden, nicht aber vielleicht als Fette oder Wachsarten dem Farbstoffe ausschliesslich als Chromoplasten dienen, scheint sich ausser aus dem optischen Verhalten auch daraus zu ergeben, dass weder Glycerin noch andere höhere Alkohole aufgefunden werden konnten, an welche in letzterem Falle die Fettsäuren gebunden wären.

2. Als ein Zersetzungsprodukt des Farbstoffes ist ein Chohlesterin der wahrscheinlichen Zusammen-

setzung $C_{26}H_{44}O_2 + 2H_{20}O$ und dem spez. Drehungsvermögen 36,83° anzusehen; dieses Cholesterin bildet in Verbindung mit den Fettsäuren und einem oder mehreren anderen Körpern den Farbstoff.

3. Neben dem Farbstoffe tritt ein Kohlenwasserstoff der Methanseife in den Blüthen auf.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, an dieser Stelle meine Gefühle des Dankes auszudrücken, welchen ich meinen hochverehrten Lehrern Herrn Hofrath Prof. Dr. A. Hilger und Herrn Professor Dr. E. Wiedemann für ihre mir bei dieser Arbeit geleistete Unterstützung schulde.